

Rec'd PCT/PTO 18 FEB 2005

10/525714

PCT/JP03/10523

20.08.03

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 10 OCT 2003

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 2 年 8 月 2 0 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 2 - 2 3 9 6 4 2
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 2 - 2 3 9 6 4 2]

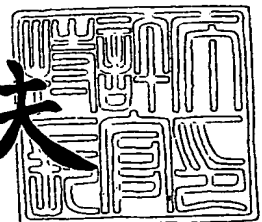
出 願 人 ソニー株式会社
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 9 月 2 5 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特 2 0 0 3 - 3 0 7 8 4 0 7

【書類名】 特許願

【整理番号】 0290484201

【提出日】 平成14年 8月20日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都品川区北品川6丁目7番35号
 ソニー株式会社内

 【氏名】 瀬川 雄司

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都品川区北品川6丁目7番35号
 ソニー株式会社内

 【氏名】 眞峯 隆義

【特許出願人】

 【識別番号】 000002185

 【氏名又は名称】 ソニー株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100112874

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 渡邊 薫

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 076005

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ハイブリダイゼーション検出部及びセンサーチップ

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 検出用ヌクレオチド鎖と該検出用ヌクレオチド鎖と相補性のある塩基配列を備える標的ヌクレオチド鎖との間のハイブリダイゼーションの場となる反応領域が、前記検出用ヌクレオチド鎖を伸長させる均一電界と、前記均一電界と直交する不均一電界と、を形成できるように構成されたことを特徴とするハイブリダイゼーション検出部。

【請求項 2】 検出用ヌクレオチド鎖と該検出用ヌクレオチド鎖と相補性のある塩基配列を備える標的ヌクレオチド鎖との間のハイブリダイゼーションの場となる反応領域と、

前記反応領域中の前記検出用ヌクレオチド鎖を伸長させる均一電界を形成する対向電極と、

前記反応領域に配列された走査電極と、を備え、

前記走査電極に電圧を印加して、隣り合う一对の前記走査電極間の領域に不均一電界を形成することにより、前記反応領域に存在する伸長状態の検出用ヌクレオチド鎖を前記走査電極間に誘電泳動し、走査電極間に橋架けするように固定させたことを特徴とするセンサーチップ。

【請求項 3】 前記均一電界で伸長された標的ヌクレオチド鎖を、前記走査電極間の領域へ誘電泳動し、該走査電極間に固定された状態の前記検出用ヌクレオチド鎖とハイブリダイゼーションさせる構成とされたことを特徴とする請求項 2 記載のセンサーチップ。

【請求項 4】 前記走査電極の端部形状が、円弧状又は多角形状を備えることを特徴とする請求項 2 記載のセンサーチップ。

【請求項 5】 前記対向電極が、平行に配置されて対向していることを特徴とする請求項 2 記載のセンサーチップ。

【請求項 6】 前記対向電極及び前記走査電極によって形成される電界が、交流であることを特徴とする請求項 2 記載のセンサーチップ。

【請求項 7】 請求項 1 記載のハイブリダイゼーション検出部を備えることを

特徴とするセンサーチップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、DNAチップ等のセンサーチップに好適に利用できるハイブリダイゼーション検出部に係わる技術に関する。より詳細には、ハイブリダイゼーションの場を提供する反応領域において、伸長状態の検出用ヌクレオチド鎖を走査電極間に整列固定させることによって、ハイブリダイゼーション効率の向上を図る技術に関する。

【0002】

【従来の技術】

本発明の主たる従来技術を以下説明する。現在、マイクロアレイ技術によって所定のDNAが微細配列された、いわゆるDNAチップ又はDNAマイクロアレイ（以下、「DNAチップ」と総称。）と呼ばれるバイオアッセイ用の集積基板が、遺伝子の変異解析、SNPs（一塩基多型）分析、遺伝子発現頻度解析等にご利用されており、創薬、臨床診断、薬理ジェノミクス、法医学その他の分野において広範囲に活用され始めている。

【0003】

このDNAチップは、ガラス基板やシリコン基板上に多種・多数のDNAオリゴ鎖やcDNA（complementary DNA）等が集積されていることから、ハイブリダイゼーション等の分子間相互反応の網羅的解析が可能となる点が特徴とされている。

【0004】

DNAチップによる解析手法の一例を簡潔に説明すれば、ガラス基板やシリコン基板上に固相化されたDNAプローブに対して、細胞、組織等から抽出したmRNAを逆転写PCR反応等によって蛍光プローブdNTPを組み込みながらPCR増幅し、前記基板上においてハイブリダイゼーションを行い、所定の検出器で蛍光測定を行うという手法である。

【0005】

ここで、DNAチップは二つのタイプに分類できる。第1のタイプは、半導体露光技術を応用したフォトリソグラフィーの技術を用いて、所定の基板上に直接オリゴヌクレオチドを合成していくものであり、アフィメトリクス社（Affymetrix社）によるものが代表的である（例えば、特表平4-505763号報参照）。この種のチップは、集積度は高いが、基板上でのDNA合成には限界があって、数十塩基程度の長さである。

【0006】

第2のタイプは、「スタンフォード方式」とも称されるもので、先割れピンを用いて、予め用意されたDNAを基板上に分注・固相化していくことによって作製されるものである（例えば、特許第3272365号公報参照）。この種のチップは、集積度は前者に比べて低いが、1kb程度のDNA断片を固相化できるという利点がある。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記した従来のDNAチップ技術では、検出表面部位（スポット部位）に固定化されたDNAプローブ等の検出用ヌクレオチド鎖は、ブラウン運動の作用でランダムコイル状に絡まったり、丸まったり等しており、また、検出表面においてその集積密度に偏りがあった。

【0008】

このため、標的ヌクレオチド鎖とのハイブリダイゼーションの際には立体障害が発生するので、ハイブリダイゼーションの効率が悪く、反応にも長時間を要し、更には、擬陽性又は偽陰性を示してしまう可能性もあるという技術的課題があった。

【0009】

そこで、本発明は、検出表面部位においてハイブリダイゼーションの場を提供する反応領域において、伸長状態の検出用ヌクレオチド鎖を整列固定させるように工夫することによって、ハイブリダイゼーション効率の向上を図ることを主な目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】

上記技術的課題を解決するために、まず、本願においては、以下の「ハイブリダイゼーション検出部」並びに該検出部を備える「センサーチップ」を提供する。

【0011】

まず、本願では、検出用ヌクレオチド鎖と該検出用ヌクレオチド鎖と相補性のある塩基配列を備える標的ヌクレオチド鎖との間のハイブリダイゼーションの場となる反応領域と、前記反応領域には、前記検出用ヌクレオチド鎖を伸長させる均一電界と、前記均一電界と直交する不均一電界と、を形成できるように構成されたハイブリダイゼーション検出部を提供する。なお、「不均一電界」は、「均一電界」の作用で伸長された検出用ヌクレオチド鎖を、反応領域に配列された不均一電界形成用の電極間に固定する目的で用いることができる。

【0012】

次に本願では、前記検出部を備えるセンサーチップを提供する。具体的には、前記同様の反応領域と、この反応領域に均一電界を形成し、前記検出用ヌクレオチド鎖を伸長させる対向電極と、前記検出用ヌクレオチド鎖の分子長以下の間隔で、前記均一電界と直交する不均一電界を形成するように配置された複数の走査電極と、を備えるセンサーチップを提供することができる。

【0013】

なお、前記走査電極の端部形状は、電界形成及び固定容易性の観点から、矩形形状の他、円弧状又は三角形状等の多角形状としてもよく、前記対向電極は、平行に配置される構成が望ましい。

【0014】

本発明に係るセンサーチップでは、前記反応領域に存在する検出用ヌクレオチド鎖を対向電極間に均一電界を形成することにより伸長させ、その後、走査電極に印加することによって、隣り合う前記走査電極間の狭小な領域に、局所的に不均一電界（電気力線が一部に集中する電界）を形成することができる。これにより、前記反応領域に存在する伸長状態の検出用ヌクレオチド鎖を走査電極間に誘電泳動して、検出用ヌクレオチド鎖を走査電極間に橋架けするように固定させる

【0015】

走査電極の数は、目的や条件に応じて適宜決定できる。適当数の電極が設けられた走査電極群においては、隣り合う一対の走査電極を順番に選択し、チップに設けられたスイッチを切り替えて次々に電圧を印加させていくことによって、各走査電極間の領域に近在する（伸長状態の）検出用ヌクレオチド鎖を誘電泳動の作用によって走査電極側に引き付け、走査電極の各端部間に橋架け状態で次々に固定させていくことができる。

【0016】

この手段により、反応領域に滴下されて分散し、ブラウン運動によってランダムコイル状に絡み合った形態となっている、ハイブリダイゼーションには適さない形態の検出用ヌクレオチド鎖を、伸長させてハイブリダイゼーションし易い直鎖状の形態に調整する。更に、検出用ヌクレオチド鎖を、伸長状態のままで走査電極部位に整列固定させていくことによって、固定化される検出用ヌクレオチド鎖の配列密度を平均化し、ハイブリダイゼーションの際の立体障害による影響を排除する。

【0017】

なお、検出用ヌクレオチド鎖の伸長は、 1 MV/m 程度の高周波電界を印加すると、ヌクレオチド鎖（リン酸イオン等を備えるヌクレオチド鎖の陰電荷とイオン化した水素原子の陽電荷で構成される多数の分極ベクトルからなるヌクレオチド鎖）に誘電分極が生じ、その結果、ヌクレオチド分子が電界と平行に直線状に引き伸ばされるという原理に基づいている。伸長されたヌクレオチド鎖は、塩基同士が重層することが無くなる結果、反応時の立体障害がなくなり、近在するヌクレオチド鎖とのハイブリダイゼーション反応が円滑に行われるようになる。

【0018】

ここで、本願における主な技術用語の定義付けを行う。

【0019】

ここで、本願において「ヌクレオチド鎖」とは、プリンまたはピリミジン塩基と糖がグリコシド結合したヌクレオシドのリン酸エステルの重合体を意味し、D

NAプローブを含むオリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、プリンヌクレオチドとピリミジンヌクレオチドが重合したDNA（全長あるいはその断片）、逆転写により得られるcDNA（cDNAプローブ）、RNA、ポリアミドヌクレオチド誘導体（PNA）等を広く含む。

【0020】

「検出用ヌクレオチド鎖」は、前記検出表面に直接的に又は間接的に固定化されるヌクレオチド鎖であり、「標的ヌクレオチド鎖」は、前記検出用ヌクレオチド鎖と相補的な塩基配列を備えるヌクレオチド鎖であって、場合によっては、蛍光物質等により標識される。

【0021】

「ハイブリダイゼーション」は、相補的な塩基配列構造を備えるヌクレオチド鎖間の相補鎖（二重鎖）形成反応を意味する。

【0022】

「反応領域」は、液相中でのハイブリダイゼーション反応の場を提供できる領域である。この反応領域では、一本鎖ヌクレオチド間の相互反応、即ちハイブリダイゼーションに加え、検出用ヌクレオチド鎖から所望の二本鎖ヌクレオチドを形成し、該二本鎖ヌクレオチドとペプチド（又はタンパク質）の相互反応、酵素応答反応その他の分子間相互反応も行わせることができる。例えば、前記二本鎖ヌクレオチドを用いる場合は、転写因子であるホルモンレセプター等のレセプター分子と応答配列DNA部分の結合等を分析することができる。

【0023】

「立体障害（steric hindrance）」は、分子内の反応中心等の近傍に嵩高い置換基の存在や反応分子の姿勢や立体構造（高次構造）によって、反応相手の分子の接近が困難になることによって、所望の反応（本願では、ハイブリダイゼーション）が起こりにくくなる現象を意味する。

【0024】

「誘電泳動」は、電界が一様でない場において、分子が電界の強い方へ駆動する現象であり、交流電圧をかけた場合も、かけた電圧の極性の反転につれて分極の極性も反転するので、直流の場合と同様に駆動効果が得られる（監修・林 輝

、「マイクロマシンと材料技術（シーエムシー発行）」、P 37～P 46・第5章・細胞およびDNAのマニピュレーション参照）。

【0025】

「対向電極」は、電圧印加可能な一对の電極を意味する。「走査電極」は、スイッチのオン／オフにより順次電圧印加可能な複数の電極が配列された電極群を意味する。

【0026】

「センサーチップ」は、石英ガラスや合成樹脂等で形成された基板に物質間の相互反応作用を検出できる検出表面及び反応領域が設けられたものを意味し、代表例としてDNAチップを挙げることができる。

【0027】

以上のように、本発明は、遺伝子の変異解析、SNPs（一塩基多型）分析、遺伝子発現頻度解析等において必須となるハイブリダイゼーションの検出を、効率良く実施できるハイブリダイゼーション検出部及び該検出部を備えるDNAチップ等のセンサーチップを、創薬、臨床診断、薬理ジェノミクス、法医学その他の関連産業界に提供するという技術的意義を有している。

【0028】

【発明の実施の形態】

以下、添付図面に基づき、本発明の好適な実施形態について説明する。

【0029】

まず、図1は、本発明に係るハイブリダイゼーション検出部（以下、「検出部」と略称する。）及びセンサーチップの第1実施形態（符号1a）の要部構成を表す図である。

【0030】

第1実施形態である検出部1aには、まず、反応領域Rが設けられている。この反応領域Rは、検出用ヌクレオチド鎖X又は標的ヌクレオチド鎖Yを含む試料溶液が添加される貯留領域であって、ハイブリダイゼーションの反応の場を提供する領域又は空間である。

【0031】

この反応領域Rには、対向電極A, Bが配置されている。この対向電極A, Bは、好適には平行に配置され、電源V₁に接続されている。図示されたスイッチsをオンにし、電源V₁によって高周波電圧を印加すると、電極A, B間の反応領域Rに、均一電界（電気力線が一部に集中しない電界）が形成される。対向電極A, Bの電界の条件は、約 1×10^6 V/m、約1MHzという条件が、好適である（Masao Washes and Osamu Kurosawa: "Electrostatic Manipulation of DNA in Micro fabricated Structures", IEEE Transaction on Industrial Application Vol.26, No.26, p.1165-1172(1990)参照）。

【0032】

前記均一電界の作用によって、前記反応領域R中にランダムコイル状等の形態で分散して存在している検出用ヌクレオチド鎖Xを、前記均一電界に沿った方向に伸長させ、直鎖状とすることができる（原理については既述）。

【0033】

続いて、対向電極A, Bの間には、対向電極A, Bと直交するように、第2の対向電極G, D（D₁, D₂, D₃, ... D_x, D_y, D_z）が配置されており、それぞれ図示された電源V₂に接続又は接続可能に構成されている。

【0034】

検出部1aにおいては、電極Gに一つの矩形状電極が採用され、一方の電極D群は、所定距離を隔てて電極Gに対向配置された走査電極とされている。即ち、走査電極D群は、スイッチS₁, S₂, S₃ ... S_x, S_y, S_zを順次オン／オフすることによって、隣り合う一対の走査電極D間に次々に電圧が印加されていく構成を備える。導通状態では、各走査電極間（例えば、GとD₁, D₂間）の各領域に、電気力線が集中する不均一電界が形成される。

【0035】

なお、走査電極D群の各電極D₁, D₂ ... の配置間隔は、本発明の目的上、（伸長状態の）検出用ヌクレオチド鎖の分子長以下とする（以下同様）。

【0036】

次に、図2（A）は、図1中のI—I線矢視断面図であり、図2（B）は、図2（A）で示された検出部1aの変形形態（符号1'a）を表すI—I線矢視断

面図である。

【0037】

図2 (A) で示されているように、検出部1 a、1' aは、石英ガラスやシリコン、ポリカーボネート、ポリスチレン等の合成樹脂で形成された基板E₁、E₂の間の狭小な間隙に設けられている。検出部1 aでは、電極A、B等の厚みと反応領域Rの深さ（又は幅）が一致している。

【0038】

場合によっては、図2 (B) に示される検出部1' aのように、誘電体Uによって各電極A、B等を挟持させた構成とし、これにより基板E₁、E₂の間隔を広げ、反応領域Rの容積を増やすようにしてもよい。また、図示はしないが、反応領域Rには、走査電極D群を反応領域Rの深さ方向に複数列並べて配置してもよい。

【0039】

ここで、図3は、前記検出部1 a（又は1' a）において、対向電極A－B間に電圧が印加され、かつ第2対向電極G－D_x間及びG－D_y間に電圧が印加された状態を表している。この図3では、反応領域Rに対して標的ヌクレオチド鎖Yが既に添加された状態が示されている。

【0040】

図3に示すように、対向電極A、Bによる均一電界の作用で伸長された検出用ヌクレオチド鎖Xは、近在する走査電極D₁－D₂、D₂－D₃・・・D_x－D_y・・・の間に向けて誘電泳動によって駆動され、各電極Dの端部d－d間に橋架けされた状態で固定される。

【0041】

図3中における符号X'は、隣り合う電極D間に固定された状態の検出用ヌクレオチド鎖を示している（他の図面でも同様）。なお、この図3は、スイッチS_x、S_yがオンされ、電極GとD_x－D_y間に不均一電界が形成されている段階を示している。

【0042】

ここで、反応領域Rに後添加されてきた標的ヌクレオチド鎖Yは、対向電極A

、Bによって形成された均一電界の作用を受けて、検出用ヌクレオチド鎖Xと同様に伸長される。この伸長された標的ヌクレオチド鎖Y（の相補配列部分）は、電極D間に固定化された状態の（伸長された）検出用ヌクレオチド鎖X'に引き寄せられると、立体障害の影響もなく、効率の良いハイブリダイゼーションが進行する。

【0043】

次に、図4は、本発明に係る検出部の第2実施形態（符号1b）の要部構成を表している。

【0044】

この検出部1bは、上記した第1実施形態である検出部1a（1'a）と異なり、各走査電極群 $C_1, C_2, C_3 \dots C_x, C_y, C_z$ に対向する電極（図1、図3中の符号Gに相当する電極）が設けられていない。隣り合う走査電極間 $C_1-C_2, C_2-C_3, \dots C_x-C_y, \dots$ に対しては、図示された所定のスイッチ群のオン／オフ手順に基づき、図示された電源 V_3 から電圧が順次印加される構成となっている。

【0045】

この図4では、対向電極A-B、走査電極 C_x-C_y に電圧が印加され、走査電極 C_x, C_y 間に固定された検出用ヌクレオチド鎖X'に向けて標的ヌクレオチド鎖Yが引き付けられている状態（矢印部分参照）が例示されている。

【0046】

図5は、本発明に係る検出部の第3実施形態（符号1c）の構成を表している。

【0047】

図5で表された検出部1cは、対向電極A、Bの間の領域に、電源 V_3 によって印加される走査電極C群と電源 V_4 によって印加されるD群とを対設させている。具体的には、並設された走査電極 $C_1, C_2, C_3 \dots C_x, C_y, C_z$ に対して、それぞれ対向するように走査電極 $D_1, D_2, D_3 \dots D_x, D_y, D_z$ が配設されている。

【0048】

この図5では、対向電極AとB、走査電極C_xとC_y、D_xとD_yに印加され、標的ヌクレオチド鎖Yが固定された検出用ヌクレオチド鎖X'に引き付けられている状態（矢印部分参照）が例示されている。

【0049】

続いて、図6は、本発明に係る検出部の第4実施形態（符号1d）の要部構成を表している。

【0050】

この検出部1dは、第3実施形態である検出部1cと同様に、並設された走査電極C₁, C₂, C₃・・・C_x, C_y, C_zに対して、それぞれ対向するように走査電極D₁, D₂, D₃・・・D_x, D_y, D_zが配設されている。走査電極C群とD群は、共通の電源V₅によって印加される構成を備えている。この図6では、対向電極AとB、走査電極C_xとC_y—D_xとD_yにそれぞれ印加され、標的ヌクレオチド鎖Yが固定された検出用ヌクレオチド鎖X'に引き付けられている状態（矢印部分参照）が例示されている。

【0051】

図7は、走査電極D_x～D_yを代表例として、走査電極の端部dの代表的な実施例を表している。図7（A）は、端部d₁が矩形状の走査電極、図7（B）は端部d₂が三角形状の走査電極、図7（C）は端部d₃が円弧状の走査電極をそれぞれ表している。電気力線を集中させて不均一電界を形成し易く、かつ検出用ヌクレオチド鎖Xを固定し易い形状でもあることから、端部d₃が円弧状の走査電極が特に好適と考えられる。

【0052】

なお、走査電極端部d（d₁, d₁, d₃）の表面は、検出用ヌクレオチド鎖Xの末端がカップリング反応等の反応によって固定されるように表面処理してもよい。一例を挙げれば、ストレプトアビジンによって表面処理された検出表面の場合には、ビオチン化されたヌクレオチド鎖末端の固定化に適している。

【0053】

続いて、電圧印加操作例を図8、図9について説明する。なお、図8は、検出部1aに対応する電圧印加操作例（3例）、図9は、検出部1bに対応する電圧

印加操作例（3例）をそれぞれ表している。

【0054】

図1の検出部1aを例に説明すると、図8（A）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極を順番にオンしていくときに（G-D1・D2→G-D2・D3→・・・）、常時印加オンとしてもよい。

【0055】

また、図8（B）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極を順番にオンするたびにオフするようにしてもよい。

【0056】

更に、図8（C）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極に印加するときはオフするようにしてもよい。この電圧印加操作を繰り返すことによって、検出用ヌクレオチド鎖Xは走査電極に確実に固定できる。

【0057】

図4の検出部1bを例に説明すると、図9（A）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極を順番にオンしていくときに（D1-C2→C2-C3→・・・）、常時印加オンとしてもよい。

【0058】

また、図9（B）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極を順番にオンするたびにオフするようにしてもよい。

【0059】

更に、図9（C）に示すように、対向電極A、B間に印加している電圧は、走査電極に印加するときはオフ状態にしてもよい。この電圧印加操作を繰り返すことによって、検出用ヌクレオチド鎖Xは走査電極に確実に固定できる。なお、既述した検出部1c、検出部1dについても、上記同様の電圧印加操作を実施できる。

【0060】

なお、図8（B）、（C）、図9（B）、（C）の場合のように、対向電極A、B間に対する電圧をオン／オフして断続的に印加すると、固定された検出用ヌクレオチド鎖X'に対して、反応領域R中の標的ヌクレオチド鎖Yを段階的に接

近させたり、あるいは標的ヌクレオチド鎖Yを前後に移動させたり、更には、反応のタイミングを調整したりすることができるという利点がある。

【0061】

また、対向電極A、B間に対する電圧の印加をオフにすることによって、直鎖状の標的ヌクレオチド鎖Yと直鎖状の検出用ヌクレオチド鎖X' との間の相補鎖形成反応、即ちハイブリダイゼーションを、専らブラウン運動に委ねて進行させることができる。

【0062】

以上の電圧印加操作により、直鎖状に伸長されて走査電極D群等に固定された状態の検出用ヌクレオチド鎖X' とこれと同様に直鎖状に伸長された標的ヌクレオチド鎖Yの相補性のある塩基間の水素結合の形成は、立体障害が少なくなり、効率良く進行することになる。

【0063】

即ち、検出用ヌクレオチド鎖X' と前記標的ヌクレオチド鎖Yとのハイブリダイゼーション反応が効率良く進行するという結果が得られる。この結果、ハイブリダイゼーションの反応時間が短縮されるとともに、擬陽性又は偽陰性を示す確率も減少するという好ましい結果が得られる。

【0064】

なお、ハイブリダイゼーションの検出は、慣用の方法によって実施でき、例えば、標的ヌクレオチド鎖Yに標識された蛍光色素や二重鎖ヌクレオチドの塩基間に特異的に結合するPOPO-1やTOTO-3等の蛍光インターカレータに励起光を照射し、得られる蛍光を慣用のディテクタを用いて検出できる。

【0065】

より具体的には、レーザー光（例えば、青色レーザー光）を照射して反応領域Rを励起し、蛍光強度の大きさを検出器（図示せず。）によって検出し、検出用ヌクレオチド鎖X' と標的ヌクレオチド鎖Yの間のハイブリダイゼーションの状態を判断する。最後に、各反応領域Rに対する蛍光強度をA/D変換し、結合反応割合をコンピュータCの画面に分布表示することによって、視覚化することができる。

【 0 0 6 6 】

【発明の効果】

本発明は、DNAチップ等のセンサーチップ表面部位においてハイブリダイゼーションの場を提供する反応領域に、伸長状態に調整された検出用ヌクレオチド鎖を反応領域中（の走査電極間）に整列固定させることによって、ハイブリダイゼーション効率の向上、反応時間の短縮、偽陽性又は偽陰性の発生防止等を確実に達成できる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明に係るハイブリダイゼーション検出部（1 a）及びセンサーチップの要部構成を表す図

【図 2】

（A）図 1 に表された検出部（1 a）の I - I 線矢視断面図

（B）（A）図で示された検出部（1 a）の変形形態（1' a）を表す I - I 線矢視断面図

【図 3】

検出部（1 a 又は 1' a）において、対向電極 A - B 間に電圧が印加され、かつ第 2 の対向電極 G - D x 間及び G - D y 間に電圧が印加された状態を表す図

【図 4】

本発明に係る検出部（1 b）及びセンサーチップの要部構成を表す図

【図 5】

本発明に係る検出部（1 c）及びセンサーチップの要部構成を表す図

【図 6】

本発明に係る検出部（1 d）及びセンサーチップの要部構成を表す図

【図 7】

（A）端部が矩形状の走査電極

（B）端部が三角形状の走査電極

（C）端部が円弧状の走査電極

【図 8】

検出部 (1 a) に対応する電圧印加操作例 (3 例) を表す図

【図 9】

検出部 (1 b) に対応する電圧印加操作例 (3 例) を表す図

【符号の説明】

1 (1 a, 1 b, 1 c, 1 d) ハイブリダイゼーション検出部

A, B 対向電極

C (C₁, C₂, C₃, . . . C_x, C_y, C_z) 走査電極

D (D₁, D₂, D₃, . . . D_x, D_y, D_z) 走査電極

G 走査電極 D 群に対向する電極

R 反応領域

S, s スイッチ

V₁ ~ V₅ 電源

X 検出用ヌクレオチド鎖

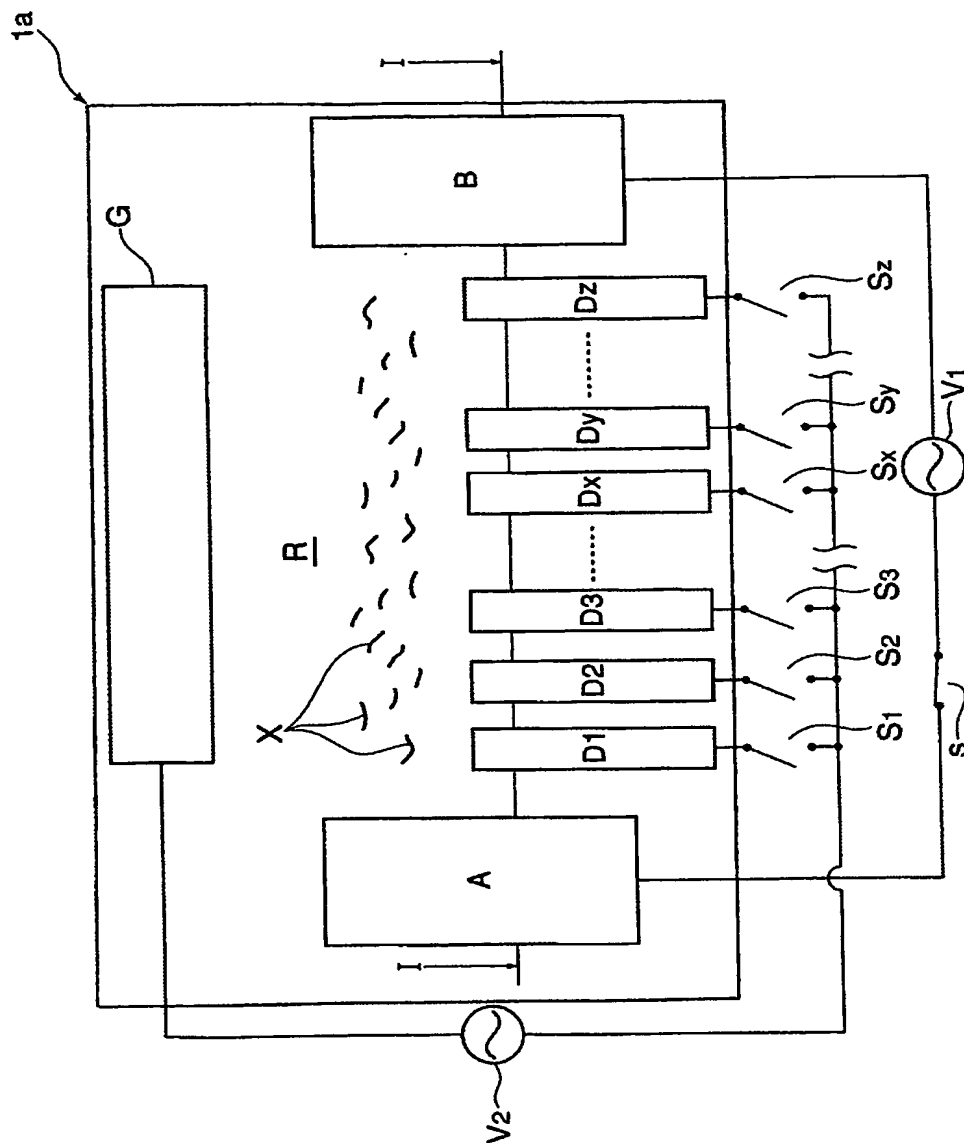
X' 固定化された検出用ヌクレオチド鎖

Y 標的ヌクレオチド鎖

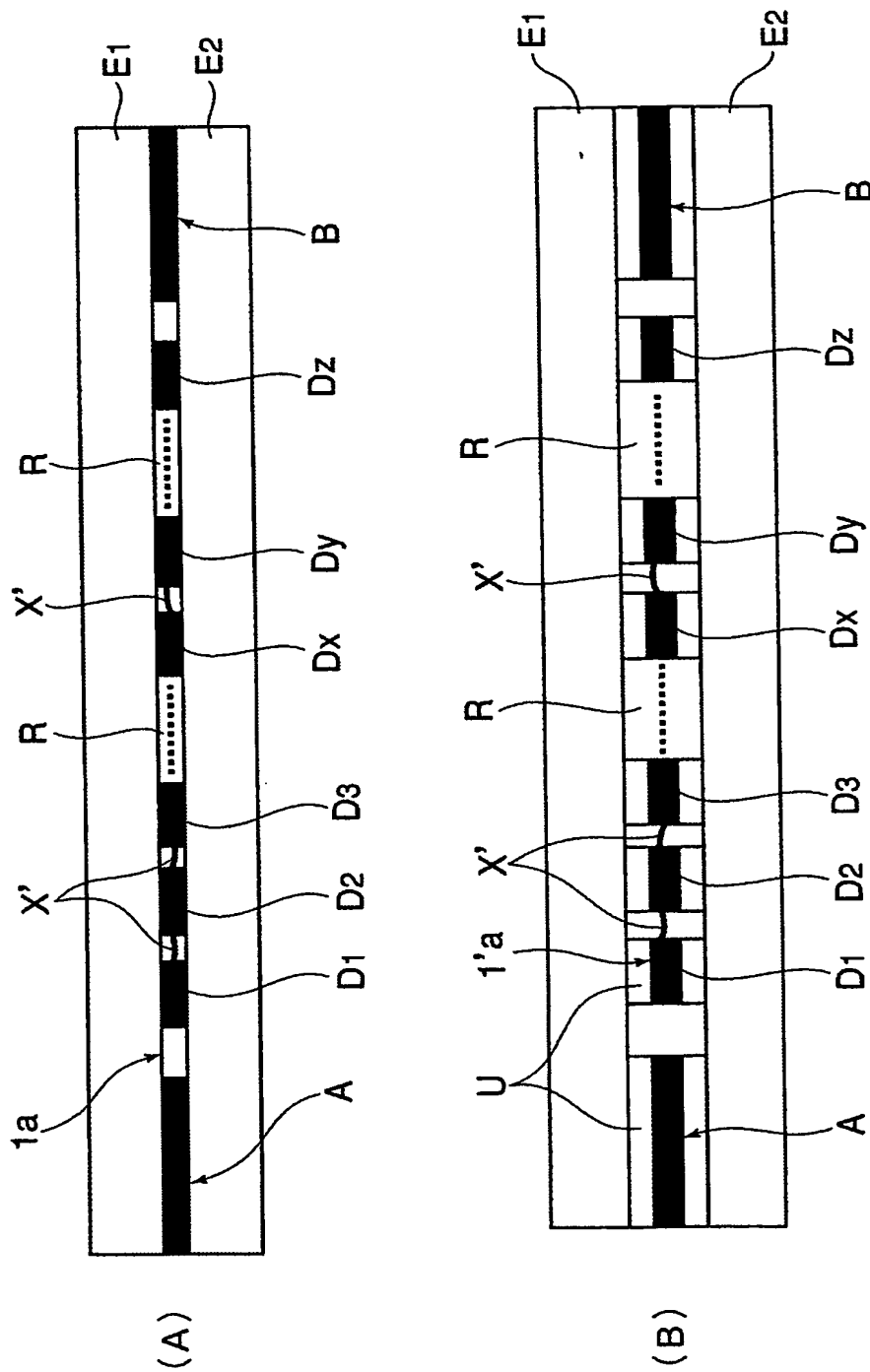
【書類名】

図面

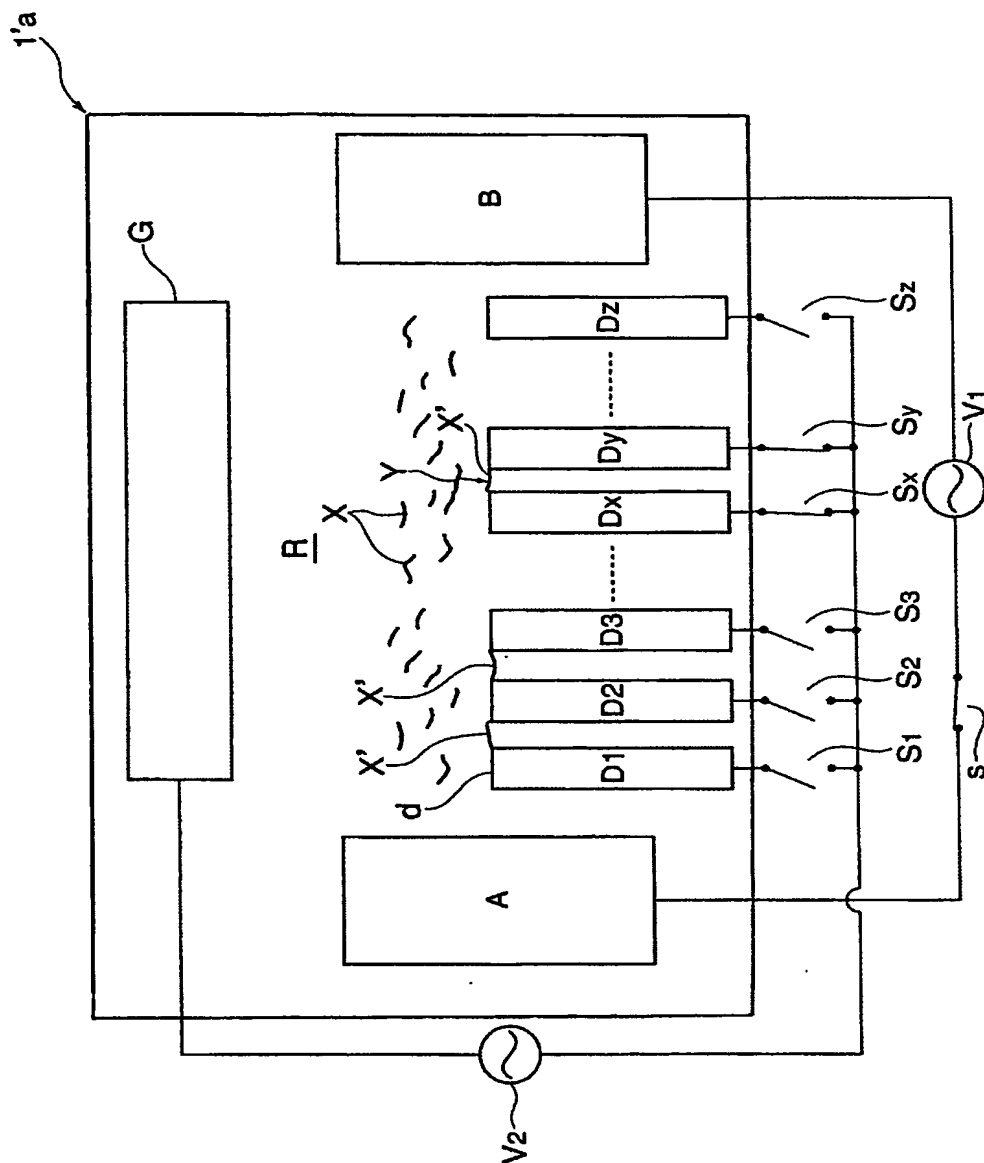
【図 1】



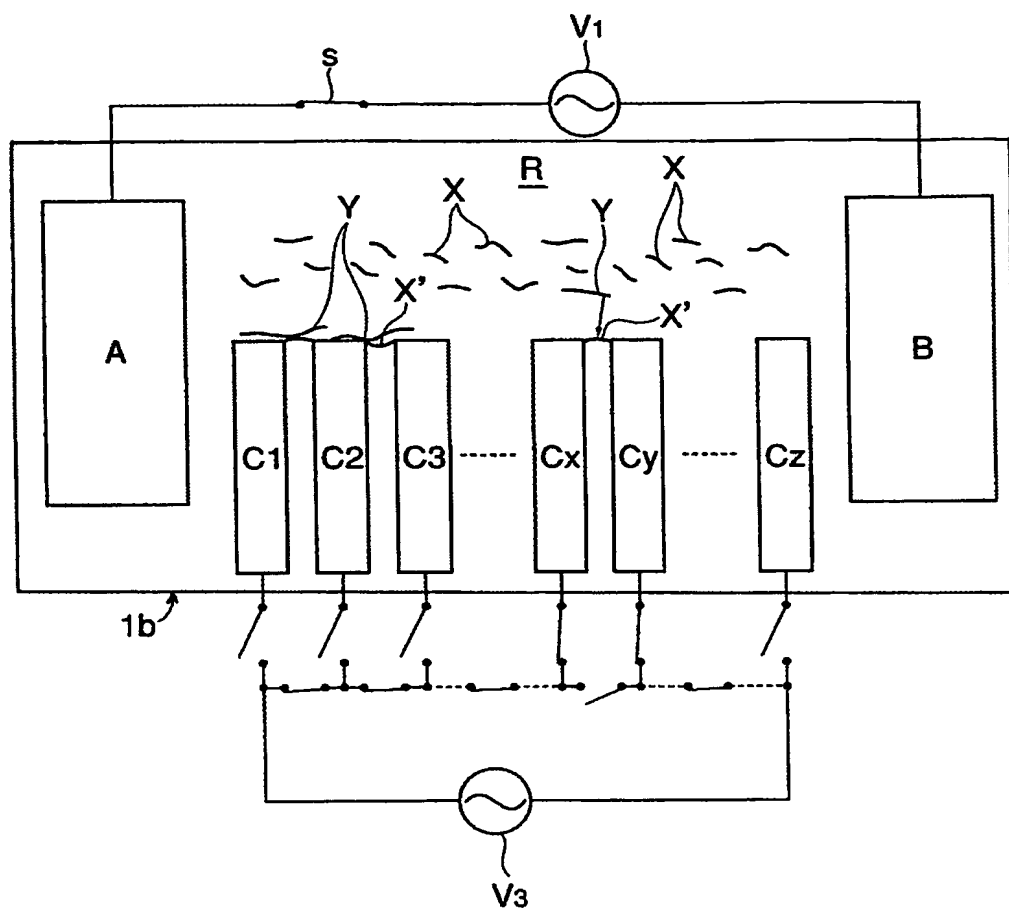
【図2】



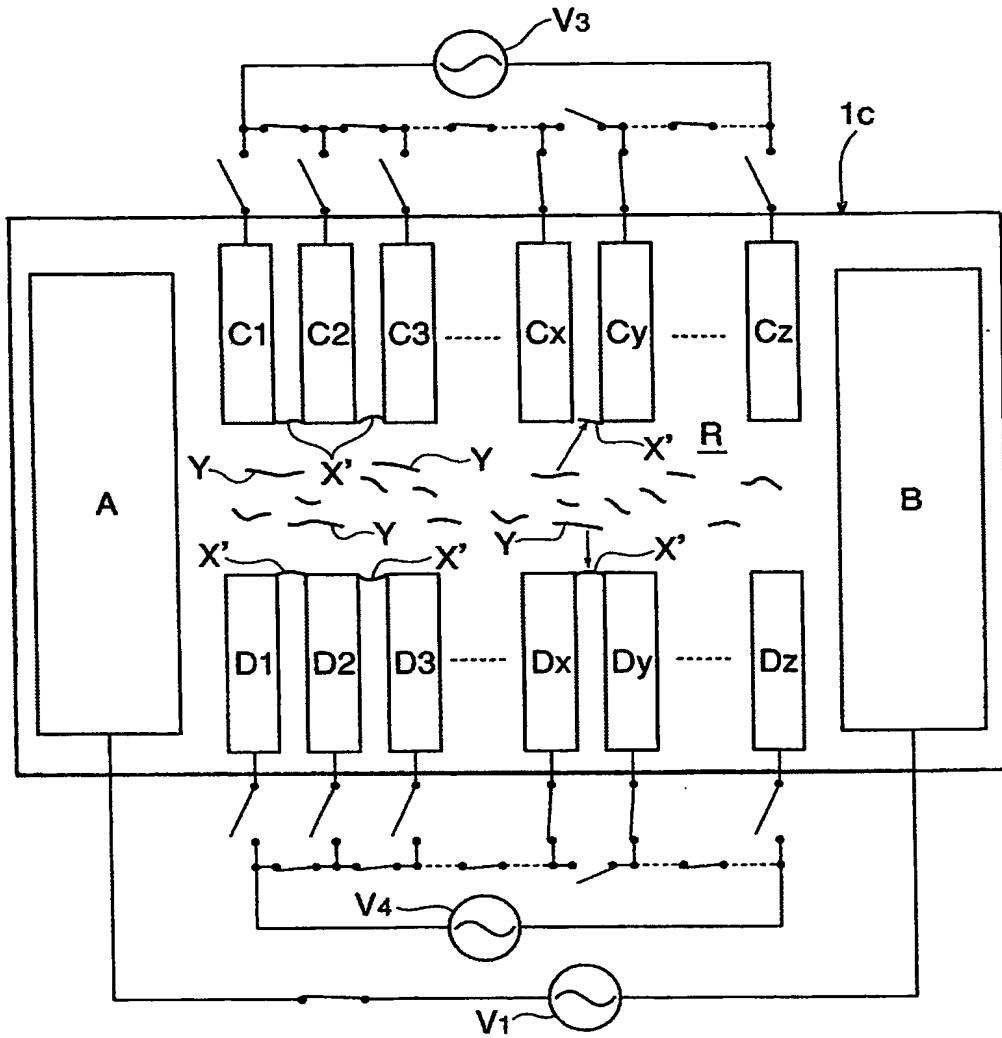
【図 3】



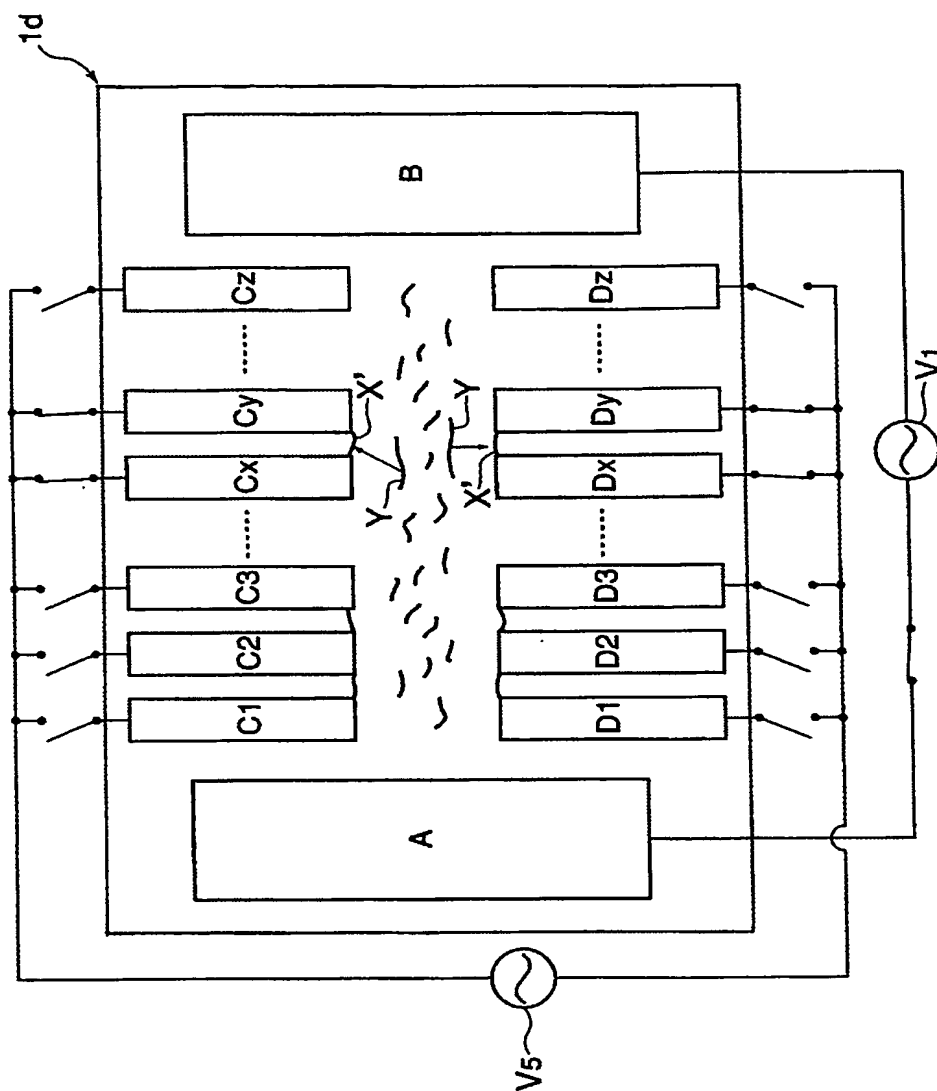
【図 4】



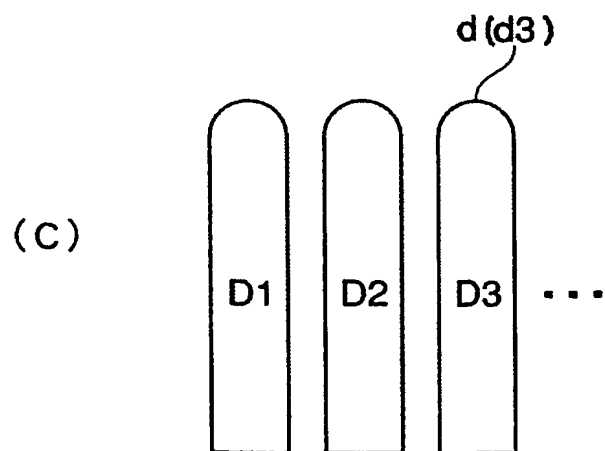
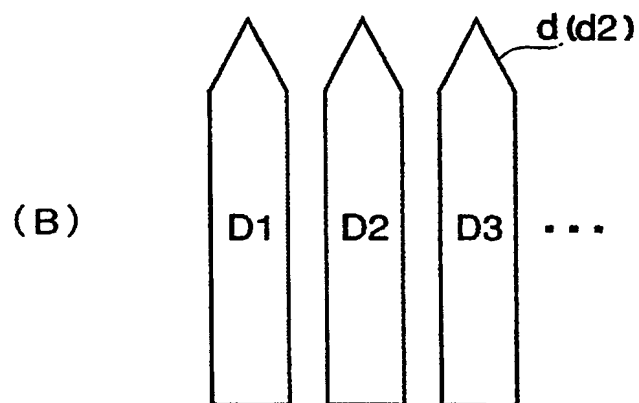
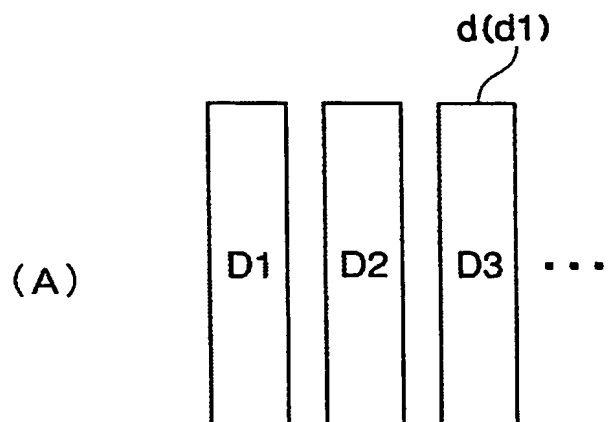
【図 5】



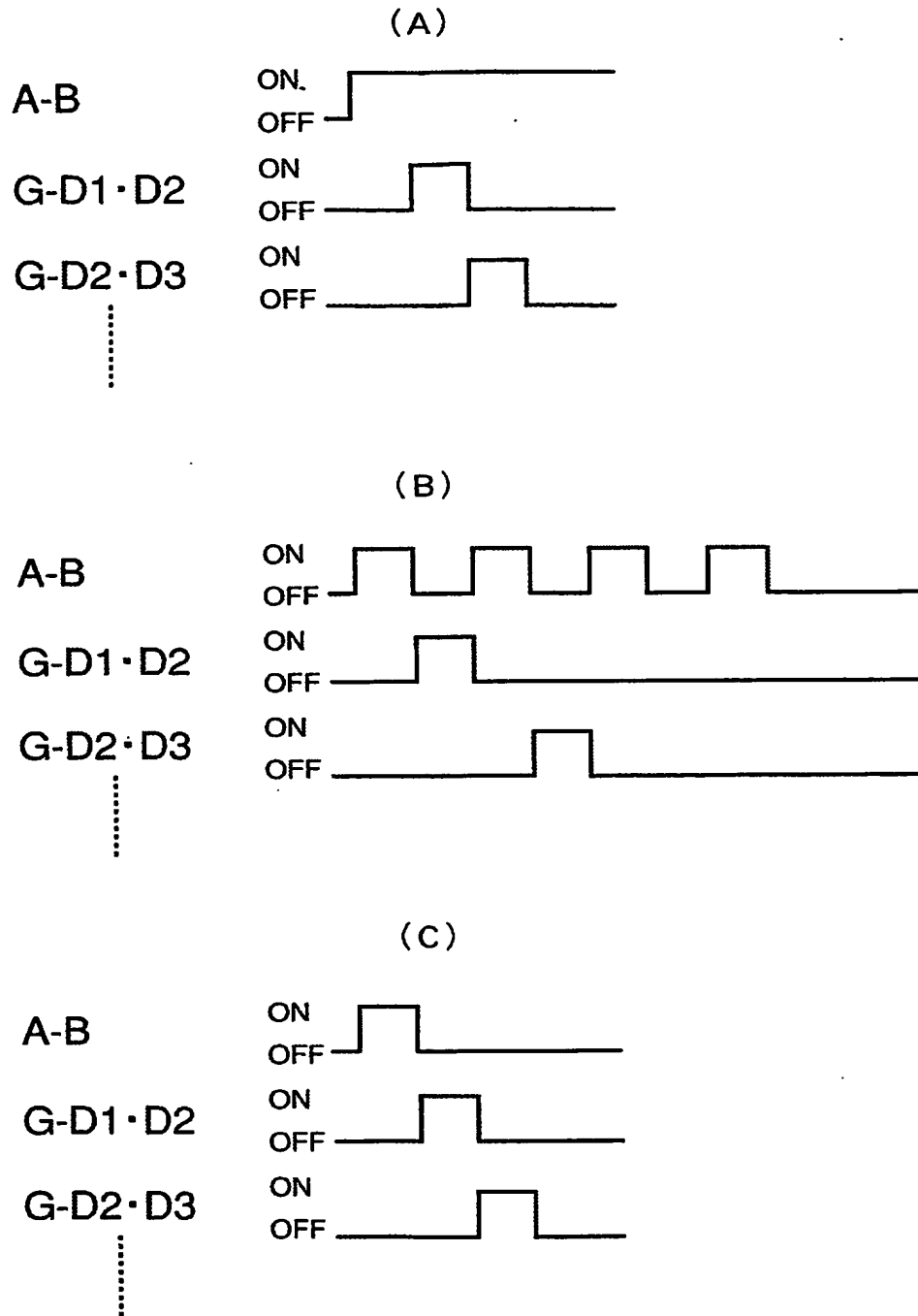
【図 6】



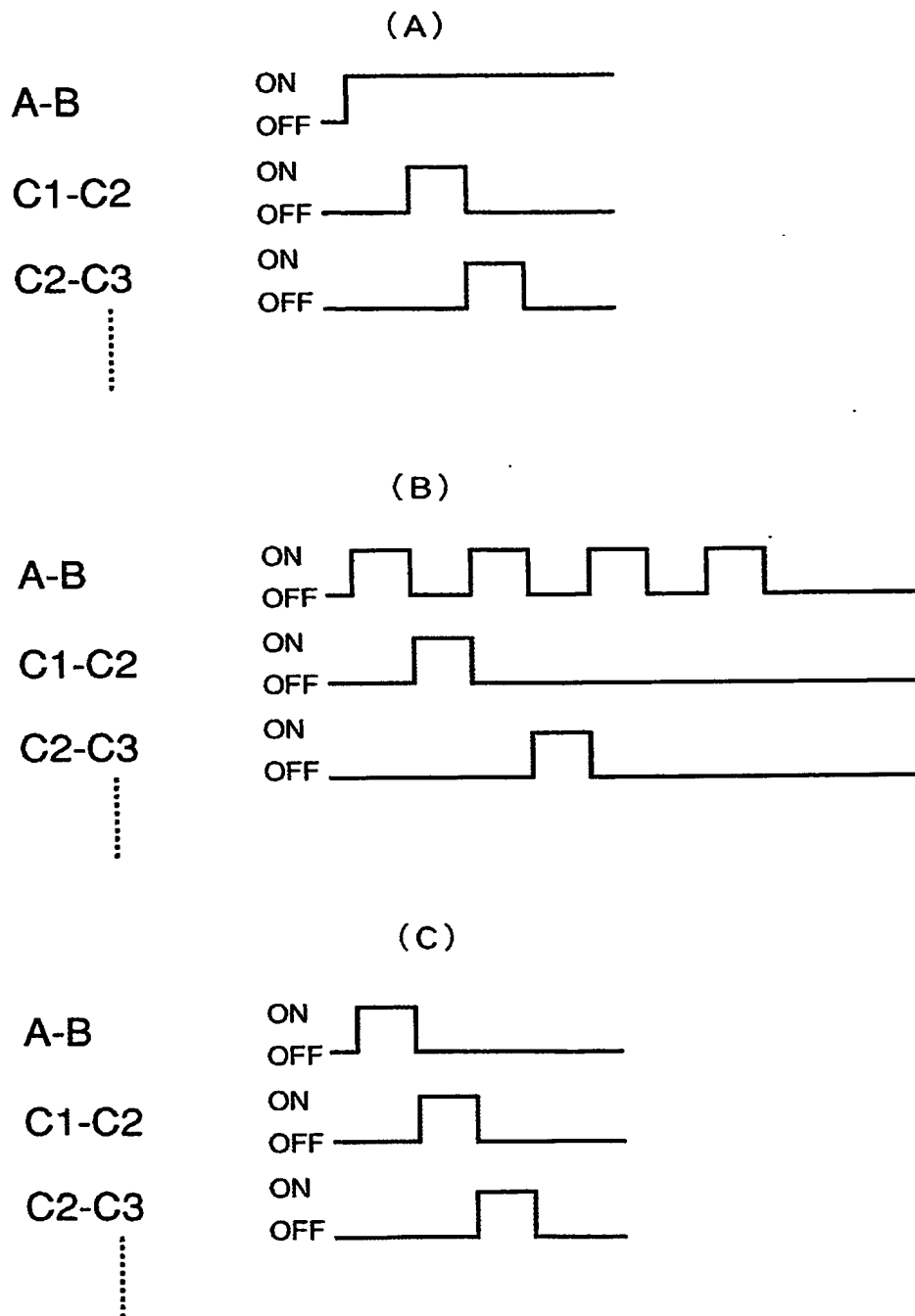
【図 7】



【図 8】



【図 9】



【書類名】 要約書**【要約】**

【課題】 伸長状態の検出用ヌクレオチド鎖を整列固定させるように工夫することによって、ハイブリダイゼーション効率の向上を図ること。

【解決手段】 検出用ヌクレオチド鎖Xと該検出用ヌクレオチド鎖Xと相補性のある塩基配列を備える標的ヌクレオチド鎖Yとの間のハイブリダイゼーションの場となる反応領域Rを備え、この反応領域Rに均一電界を形成し、前記検出用ヌクレオチド鎖Xを伸長させるための対向電極A、Bと、前記検出用ヌクレオチド鎖の分子長以下の間隔で、前記均一電界と直交する不均一電界を形成するように配置された走査電極D群を備えるハイブリダイゼーション検出部及びこの検出部を備えるセンサーチップを提供する。

【選択図】 図1

特願 2 0 0 2 - 2 3 9 6 4 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 2 1 8 5]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 3 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都品川区北品川 6 丁目 7 番 3 5 号

氏 名

ソニー株式会社